

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 03-261729

(43)Date of publication of application : 21.11.1991

(51)Int.CI. C07B 57/00
B01J 20/26
C07B 57/00
C07F 15/06
G01N 30/48

(21)Application number : 02-060689

(71)Applicant : CHISSO CORP

(22)Date of filing : 12.03.1990

(72)Inventor : NAKANO YOSHIHARU
NISHIKAWA MASAHIKO

(54) SEPARATING MATERIAL FOR OPTICAL ISOMER

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain the subject separating material used for liquid chromatography suitable for separation of optical isomers and capable of usage under a high flow rate by granulating cellulose or a cellulose derivative into a crosslinked spherical particle having a specified particle size.

CONSTITUTION: The subject separating material having 1-1000 μ m (preferably 3-500 μ m) particle size is obtained, e.g. by dissolving cellulose in a cuprammonium solution, cadoxen, thiocyanate solution, etc., forming droplets of the resultant solution in a liquid phase or a gas phase, subsequently coagulating the droplets, regenerating cellulose for formation of spherical cellulose particles and crosslinking the resultant particles using a crosslinking agent. The obtained separating material is recommendably used by packing the above-mentioned separating material in a column for liquid chromatography and carrying out operations according to the conventional liquid chromatography method. The above-mentioned separating material can be produced readily and economically and has a high mechanical strength.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報 (A) 平3-261729

⑫ Int. Cl. 5

C 07 B 57/00
B 01 J 20/26
C 07 B 57/00
C 07 F 15/06
G 01 N 30/48

識別記号

府内整理番号

⑬ 公開 平成3年(1991)11月21日

3 1 0 8217-4H
L 6939-4C
3 9 0 8217-4H
7731-4H
W 7621-2J
T 7621-2J

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全5頁)

⑭ 発明の名称 光学異性体分離剤

⑮ 特願 平2-60689

⑯ 出願 平2(1990)3月12日

⑰ 発明者 仲野義晴 茨城県水戸市渡里町2400番地の2号

⑰ 発明者 西川正彦 熊本県水俣市陣内2丁目8-13

⑰ 出願人 チツソ株式会社 大阪府大阪市北区中之島3丁目6番32号

⑰ 代理人 弁理士 佐々井 弥太郎 外1名

明細書

1. 発明の名称

光学異性体分離剤

2. 特許請求の範囲

(1) セルロースまたはセルロース誘導体を球状粒子化してなる液体クロマトグラフィー用光学異性体分離剤。
(2) 球状粒子が架橋されたものであることを特徴とする請求項(1)へ記載の分離剤。
(3) 球状粒子の粒径が1~1.000μmであることを特徴とする請求項(1)又は請求項(2)へ記載の分離剤。

3. 発明の詳細な説明

【産業上の利用分野】

本発明は光学異性体の分離に適した液体クロマトグラフィー用分離剤に関するものである。

【従来の技術】

光学異性体は化学的に同じ化合物であるが、生体に対する作用が異なるため、医学、農業、生化学などの分野において光学的に純粋なものに分離

して得ることは重要な課題となつてゐる。例えば医薬品や農薬等では化合物の立体化学は薬効に大きな影響を持つだけでなく、吸収、代謝、副作用などの面でもきわめて大きな役割を果たしている。副作用などが多く特定の薬理作用のみを持つ医薬品が強く求められており、今後ますます特定の立体構造を持つ医薬品開発の重要性は増加すると予想される。特定の立体構造を有する化合物を選択的に製造するために、立体選択性的な合成方法の検討も行なわれているが、工業的には限られた範囲でしか適用できず、混合物の分離は不可欠である。光学異性体の分離方法として優先品出法やジアステレオマー法がよく知られているが、適用範囲が限定され、また高純度に精製しようとすると非能率的であつた。このため近年クロマトグラフィー装置の発展と充填剤の開発によりクロマトグラフィー法による異性体の分離が盛んに行なわれるようになつてきた。中でも液体クロマトグラフィーはガスクロマトグラフィーに比較して分離条件が穏和であること、処理能力が大きい等の点で注目

特開平3-261729 (2)

されている。

光学異性体の分離に使用されている液体クロマトグラフィー用分離剤としては、①不斉識別能を有する低分子化合物を適当な支持体（ほとんどがシリカゲル）に結合させたもの及び、②不斉識別能を有する高分子化合物をそのままあるいは支持体と組合せて用いるものが知られている。①の例としては、アミノ酸を使用するもの（W. Santi, et al. J. Chromatogr., vol. 203, 377 (1981)）、クラウンエーテルを使用するもの（M. Sugiura, et al. J. Chromatogr., vol. 405, 145 (1987)）があり、②の例としては、多糖類の誘導体を使用するもの（K. Htada, et al. J. Am. Chem. Soc., vol. 106, 5357 (1984)）、蛋白質を使用するもの（J. Hermasson, J. Chromatogr., vol. 269, 71 (1983)）がある。液体クロマトグラフィー用分離剤として使用するためには、機械的強度が大きい、多孔性である、作用部位が粒子に均一に分布する、化学的に安定である等の要件

microcrystalline cellulose triacetate（以下、MCTと略記）を使用する方法がJ. Chromatogr., vol. 405, 155 (1987)に報告されている。しかし、これらの方針は微細な不定形粒子をそのまま使用するものであり、カラム充填下に使用する分離剤としては高流速での使用が困難である。このため、セルロース誘導体、例えばMCTをシリカゲルに担持させる方法が知られているが（J. Liq. Chromatogr., vol. 9, 313 (1986)）、この方法によるときは前述したように担持操作を必要とする上、高価である等の問題があつた。

〔発明が解決しようとする課題〕

本発明の目的は、前記した従来技術の欠点を克服し、担持操作を要することなく調製でき、高流速下での使用が可能な液体クロマトグラフィー用光学異性体分離剤を提供することにある。

〔課題を解決するための手段と作用〕

本発明者等は、セルロース及びセルロース誘導体による光学異性体の分離方法について研究し、セルロースの有する立体構造識別能力を保持しか

が必要である。これらの要件をみたすため従来は、分離能を有する物質を多孔性シリカゲル粒子、好ましくは球状粒子に結合しないしは担持させることができ広く行なわれてきた。しかしながらこの場合には、シリカゲル粒子自体が高価である上結合しないし担持の操作を必要としており、結果として分離剤が非常に高価なものになること、またシリカゲルはアルカリに弱く使用条件が限定される等の欠点があつた。

このような欠点を改善するため、生物によつて作られる高分子化合物例のセルロース及びある種のセルロース誘導体が立体構造の識別機能を有していることに注目し、液体クロマトグラフィーによる光学異性体の分離に使用する例が報告されている。セルロースそのものを分離剤に利用した例としては、J. Chromatogr., vol. 387, 562 (1987) 及び J. High Resolut. Chromatogr. Commun., vol. 3, 31 (1980) に、またセルロース誘導体を利用した例として結晶性セルロースを不均一条件下でアセチル化した

つ担体を用いることなくそのもののみを球状粒子化したセルロース及びセルロース誘導体が前述した従来技術の欠点をなくし、好適な液体クロマトグラフィー用光学異性体分離剤となり得ることを見出し本発明に到達した。すなわち、本発明は、セルロースまたはセルロース誘導体を球状粒子化してなる液体クロマトグラフィー用光学異性体分離剤を主構成とする。かかる構成とすることにより、本発明の分離剤を液体クロマトグラフィー用カラムに充填し、これに光学異性体の混合液を添加、ついで適当な溶離液により吸着物を溶出させることにより光学異性体の分離を行なうことができる。

本発明の分離剤は任意の公知方法により製造可能であるが、例えば、イ. セルロースを銅アソニニア溶液、カドキセン、テオシアン酸塩溶液などに溶解し、得られる溶液を液中あるいは気相中で液滴とした後これを凝固再生する方法（特開昭55-44312号）、ロ. セルロース有機酸エステルを有機溶媒に溶解した溶液を水系分散媒中

特開平3-261729 (3)

に懸濁した後有機溶媒を除去する方法及びかくして得られた粒子をアルカリ性物質によりけん化再生する方法(特開昭56-24430号)、ハ、前記1. 及びロ、により得られる球状セルロース粒子を架橋剤により架橋する方法(特開昭55-129156号)、ニ、前記1. ～ハ、により得られるセルロース粒子に置換基を導入する方法(日本化学会誌、1981年、1980頁)及びホ、前記ロ、により得られるセルロース有機酸エステル球状粒子を部分けん化する方法等を示すことができる。

これらの中で、ハ、で代表的に得られる架橋分離剤は、機械的強度が一段と向上するため特に好ましい。本発明分離剤の粒径は1～1000μm、好ましくは3～500μmが適する。その使用方法は例えば、通常使用されている液体クロマトグラフィー用カラムに本発明分離剤を充填し、以下、一般的な液体クロマトグラフィーの方法に従つて操作を行なえば良い。前記操作は例えば、a. 見掛けグル容積の2～10倍の溶離液をカラムに流

子化したものであり、その製法が容易で経済的である上、このものをカラムに充填して液体クロマトグラフィーを適用する際、高流速で光学異性体を分離できる等の効果が得られる。

以下、本発明を実施例によりさらに詳しく説明する。

実施例1

三酢酸セルロース(酢化度61%)320gを塩化メチレン4000mlに溶解し、得られた溶液を4%ゼラチン水溶液7000mlに滴下する。ついで攪拌下35℃で塩化メチレンを留去し、三酢酸セルロースの球状粒子を得た。このものを水洗後NaOH-エタノール-水溶液中でけん化し、球状セルロース粒子を得た。

実施例2

実施例1で得られた球状セルロース粒子の乾燥品50g、界面活性剤0.5g、リグロイン350mlを攪拌棒付きの反応容器に入れ、攪拌分散する。ついでこの分散液に20重量%水酸化ナトリウム水溶液57gを徐々に添加し、30～35℃で3

レジルの洗浄及び平衡化を行ない(これに先立ち、必要に応じて酸又はアルカリ性溶液、有機溶媒等による洗浄を行なうこともできる)、b. 目的とする光学異性体混合物の溶液(以下、サンプル液と称す)を注入し、c. 溶離液を流し、d. カラム出口に接続した検出器で各成分の溶出状態をモニタ-し、適当なフラクションに分けて溶出液を取得することにより行ない得る。

なお、該溶出液は、目的とする物質により以下に示す溶剤、すなわち、水又は緩衝液、これに塩を溶解した液、上記の何れかの液と水溶性有機溶剤との混合溶液及び有機溶剤の中から選択すればよい。このようにして得られた目的物質を含む溶液から、必要に応じて濃縮、脱塩、乾燥等の操作を行なうことにより容易に光学的に高純度の光学異性体を得ることができる。

〔発明の効果〕

本発明の分離剤は、光学異性体の分離能を有しかつ機械的強度の高いセルロース又はセルロース誘導体を、担体を用いることなくそのまま球状粒

時間攪拌した後モノクロロ酢酸16gを添加し、70℃で5時間反応させ、しかる後順次室温までの冷却、酢酸による中和及び濾過を行つた。得られた濾過物を温水中に分散させた後デカンテーションによりリグロインを除去し、その後さらに水洗してカルボキシメチル化セルロース粒子を得た。このようにして得られたカルボキシメチル化セルロース粒子50gと界面活性剤0.1g及びリグロイン400mlを攪拌機付き容器に入れ、攪拌分散する。ついでこの分散液に、5重量%の水酸化ナトリウム水溶液150gに塩化ナトリウムを飽和するまで溶解した溶液を添加して室温で2時間攪拌し、ついでエピクロロヒドリン10gを添加し、50℃に昇温して2時間反応させ、しかる後順次室温までの冷却、酢酸による中和及び濾過を行つた。濾過物を温水中に分散させた後デカンテーションによりリグロインを除去し、その後さらに水洗してカルボキシメチル化セルロース粒子の架橋物を得た。このようにして得られた架橋物粒子は真球状であり、イオン交換容量は乾燥粒子1gあ

特開平3-261729 (4)

たり、1.1 meq であつた。

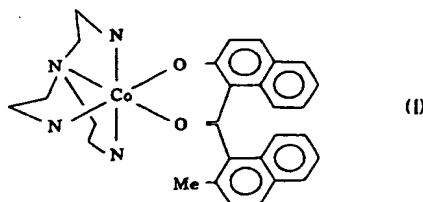
実施例 3

実施例 1 のセルロース粒子 50 g、界面活性剤 5 g をヘプタン 10 ℥ 中に攪拌分散する。この分散液に 20 重量% 水酸化ナトリウム水溶液 2.3 g を加え、室温で 2 時間攪拌した後、さらにエピクロロヒドリン 500 g を加え、45 °C で 8 時間反応させ、しかる後順次室温までの冷却、酢酸による中和及び離過を行なつた。離過物を温水中に分散させた後デカンテーションによりヘプタンを除去し、その後順次メタノール及び水で洗浄して架橋セルロース粒子を得た。

実施例 4

セルロース粉末 (Whatman 社製 CF-1 タイプ) 50 g を、40 重量% チオシアノ酸カルシウムと 20 重量% の塩化カルシウムを含む水溶液 800 g に攪拌分散させ、ついでこの分散液を減圧下 110 °C に保つて含有セルロース粉末を溶解させた。かくして得られた溶液を 110 °C のジクロロベンゼン (2% のノニオン系界面活性剤を含む)

実施例 1～4 で得られたセルロース及びセルロース誘導体の球状粒子をそれぞれ湿式分級により 40～100 μ m のものに分級し、かくして得られた粒子を内径 1.5 mm、長さ 1500 mm のカラムにスラリー法で充填した。ついでこのカラムの下、0.3 M 食塩水を溶離液として用い、下記 (1) 式に示すコバルト(Ⅲ)錯体の光学異性体混合物につき液体クロマトグラフィー法による分離処理を行なつた。



なお、上記分離処理に当り、カラムからの溶出液は 10 ℥ のフラクションに分けて取り、各フラクションについてそれぞれ紫外外吸収光度を測定した。図 1 に示す結果からも明らかなる通り、実施例 1～4 (図中の番号は実施例のそれに対応) のい

中に滴下して攪拌、分散させ、ついで得られた分散液を多量の冷メタノール中に攪拌下添加した。生成物を離過後、メタノールついで水で洗浄し球状セルロース粒子を得た。このセルロース粒子を実施例 3 と同様な処理に試して架橋セルロース粒子を得た。この架橋セルロース 50 g と界面活性剤 0.8 g 及びナトリウムポロハイドロ 0.8 g をヘプタン 700 ℥ 中に攪拌下分散させ、これに 7 重量% 水酸化ナトリウム水溶液 430 g を加え 35 °C で 1 時間攪拌し、ついでジエチルアミノエチルクロライド塩酸塩 70 g を加え 50 °C で一夜反応させ、しかる後順次室温までの冷却、酢酸による中和及び離過を行なつた。得られた離過物を温水中に分散させた後デカンテーションによりヘプタンを除去し、その後さらに水洗してジエチルアミノエチル化セルロース粒子の架橋物を得た。このようにして得られた架橋物粒子は真球状であり、イオン交換容量は乾燥粒子 1 g あたり、0.8 meq であつた。

応用例

これらの粒子を使用した場合にも 2 本のピークに分かれており、このことから光学異性体が 2 成分に分離されることが確認された。さらに各実施例の 2 つのピークにつき、それぞれ中心部の 3 フラクションを混合して旋光度を測定したところ第 1 表の結果が得られ、2 つのピークはそれぞれ互に光学異性体の関係にある化合物に対応したものであることが理解される。

第 1 表

	旋光度	
	第 1 ピーク	第 2 ピーク
実施例 1	-0.060	+0.031
実施例 2	-0.060	+0.044
実施例 3	-0.071	+0.054
実施例 4	-0.062	+0.038

比較例 1

応用例に記載の分級粒子に代え、光学異性体の分離が可能と言われている結晶性セルロース質のアビセル TG-101 (旭化成工業製) 又はこ

特開平3-261729 (5)

れをベンゼン中で不均一アセチル化して得られる MCT を用いる以外は応用例と同様にして液体クロマトグラフィー法による光学異性体の分離処理を試みたが、液の流れがほとんどなく、実質的に処理が不可能であつた。

比較例 2

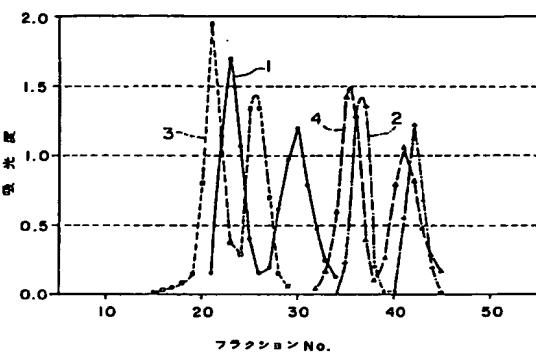
応用例に記載の分級粒子に代え、多種類のデキストランをベースとする液体クロマト用充填剤 SP-セファデックス（フアルマシア社製）を用いる以外は応用例と同様にして液体クロマトグラフィー法による光学異性体の分離処理を試みたが、1つのピークしか示さず光学異性体の分離はできなかつた。

4. 図面の簡単な説明

図1は本発明実施例の効果を説明するための、フラクションNo.と紫外線吸光度の関係図である。

1 … 実施例 1、2 … 実施例 2、3 … 実施例 3、4 … 実施例 4。

図 1



以上